

Japanese Patent Office		
Classification: 36(2)D 531.42		Publication No.: 44-20390
	Publication	Publication date: September 2, 1969
(Total pages 3)		
<p>Title: Process for producing 5'-xanthylic acid, xanthosine or xanthine</p> <p>Application No.: 40-6594</p> <p>Application date: February 8, 1965</p> <p>Applicant: KYOWA HAKKO KOGYO KK</p> <p>Abstract:</p> <p>5'-xanthylic acid, xanthosine or xanthine is prepared by culturing a micro-organism capable of producing these compounds in an aqueous nutrient medium containing a source of carbon and nitrogen under aerobic conditions in the presence of decoyinine. The decoyinine is preferably employed in amounts of 30mg to 2mg per liter of fermentation medium. Preferred conditions are a temperature of 20 DEG to 40 DEG C. and a pH of 5.5 to 9.0. Suitable carbon sources are carbohydrates and acids. Suitable nitrogen sources are ammonia, ammonium salts, nitrates, urea and other compounds. Inorganic compounds such as metal salts may be added. Amino acids and vitamins may be added in the case of micro-organisms having certain growth requirements for certain substances.</p>		

特許公報

公告 昭和44年(1969)9月2日

発明の教 1

(全3頁)

1

2

⑤発明法によるダーキサンテル酸、キサントシン
およびキサントシンの製造法

⑥特 願 昭40-6594

⑦出 願 昭40(1965)2月8日

⑧発 明 者 中山清

相模原市上鶴間4900

同 森野浩志

八王子市本町83

⑨出 願 人 協和醗酵工業株式会社

東京都千代田区大手町1の4

代 表 者 加藤井三郎

代 理 人 弁理士 近藤一緒

発明の詳細な説明

本発明はキサントシン系化合物即ち、5'-キサンテル酸、キサントシンおよびキサントシンの微生物を用いて製造する方法に関するものである。特に本発明は微生物を培地に培養するにあたり、抗生物質、デコイニン(decorynine)即ち9-β-D-(5,6-Psicofuranoseeryl)-6-aminopurine を培地に添加して、培養することにより、培地中および菌体中に5'-キサンテル酸、キサントシンおよびキサントシンを蓄積せしめこれを採取する方法に係り、その目的とするところは、25 安価な原料から微生物により上記キサントシン系化合物を合成せしめ、これらの化合物を経済的且高収量に得るにある。

キサントシン系化合物のうち、5'-キサンテル酸は重要な呈味性物質である。又同時にえられるキサントシンおよびキサントシンは、2次的に5'-キサンテル酸に誘導せしめることができる。

本発明者らは微生物を利用するヌクレオチドの製造法につき種々研究の結果、抗生物質、デコイニンを培養のいずれかの時期に培地中に存在せしめて、細菌を培養すると、5'-キサンテル酸、キサントシンおよびキサントシンが蓄積培地中および菌体中に生成蓄積されることを発見した。この

事実は従来全く未知の現象で、本発明はこの事実に基づいて完成されたものである。

本発明の最も特色とするところは、培地中に抗生物質、デコイニンを添加することにある。

5 本発明において使用する微生物は細菌であれば一般に用いることができ、その分類的位置とキサントシン系化合物生成蓄積能との間には特に深い関係は認め得なかつた。

本発明に使用する培地組成としては、使用微生物の生育を充分に支持するものであれば、一般的に使用可能である。即ち、炭水化物、有機酸その他の炭素源(グルコース、澱粉加水分解、糖蜜、酢酸、乳酸、グルタミン酸など)、窒素源(尿素、塩化アスモニウム、硝酸アンモニウムなど)、無機物(磷酸カリ、硫酸マグネシウム、塩化カルシウムなど)、含窒素天然物(コーンステープリカー、酵母エキス、肉エキス、フィッシュミールなど)を程よく含有する培地ならば使用可能である。15 栄養要求を示す菌株を用いる場合は当然その要求を満足させる物質を培地に存在させなければならない。

上記の培地に抗生物質、デコイニンを発酵経過の初期即ち、植菌前又は菌の生育が最大に達しない前、(通常、植菌後0~48時間の間)に加える。デコイニンの添加量は、菌の生育を抑制するに足る量であればよく、使用微生物の種類、添加の時期によつても異なるが、通常30μg~2mg/mlの使用が好適である。

発酵は振盪培養または通気攪拌深部培養などの好氣的条件下で、培養温度20~40℃で、pH5.5~9.0で行う。培養時間は通常2~8日で、培地中および菌体中に著量のキサントシン系化合物即ち、5'-キサンテル酸、キサントシンおよびキサントシンが蓄積する。

35 培養終了後、既知のイオン交換樹脂処理法や、吸着法、沈殿法、抽出法などによつて、これらの物質を回収することができる。

以下、本発明の実施例を示す。これは単なる一

例示であつて、本発明を限定するものではない。

実施例 1

種菌としては、プレバクテリウム・アンモニアゲネス ATCC 6872 を用い、グルコース 2%、 K_2HPO_4 0.1%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.03%、 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01%、 $NaCl$ 0.25%、カザミノ酸（ビタミンを含まず）1%、ビオチン 30 $\mu g/l$ の組成の培地（pH 7.2）で 30℃ で 24 時間培養したものを発酵培地に対して 10%（容量）の割合で接種する。種培地、発酵培地とも 250 ml 容量の三角フラスコに 20 ml ずつ分注し、殺菌後使用する。発酵培地は下記の組成のものを 30℃ で培養培養する。

発酵培地組成：グルコース 10%、尿素 0.6%、 KH_2PO_4 1%、 K_2HPO_4 1%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1%、 $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.01%、ビオチン 30 $\mu g/l$ 、パントテン酸カルシウム 5 mg/l 、チアミン 2 mg/l 。

発酵培地の pH は 8.0 に希希性ソーダを用いて調整し、殺菌は加圧殺菌釜中で、1 kg/cm^2 、10 分の条件で行う。発酵培地に種培養を接種する前にデコイニンを発酵培地に最終 6.25 $\mu g/ml$ の濃度となるよう添加する。

かくして 120 時間培養した場合、発酵液中には、5'-キサンチル酸 2.94 mg/ml 、微量のキサンチンおよびキサンチンが生成蓄積した。菌体中にもこれら化合物の蓄積が認められた。

菌体を除去し、発酵液を常法により処理して、*

*5'-キサンチル酸をえた。菌体は 0.5 N 希過塩素酸で抽出し、抽出液を苛性カリで中和して、生じた塩素酸カリの沈殿を除き、上澄を酸酵液と合わせ、これを常法により処理して、5'-キサンチル酸をえた。

実施例 2

デコイニンの添加を培養開始後 24 時間に 1 mg/ml の濃度に酸酵液に加えるよう改変した他は、実施例 1 と全く同様に培養した場合、120 時間 10 の培養で、発酵液中に 5'-キサンチル酸 0.87 mg/ml が生成蓄積した。

実施例 3

種菌としては、バチルス・ズブチリス ATCC 15244 を用いる。酸酵培地としては、グルコース 10%、 KH_2PO_4 0.1%、 K_2HPO_4 0.2%、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%、 NH_4Cl 1.5%、酵母エキス 0.5%、 $CaCO_3$ 3% の組成のものを 20 用いて、接種前にデコイニンを 1 mg/ml の濃度に加える。その他の条件は、実施例 1 と同様にして、120 時間培養した場合、培地中にキサンチン 0.75 mg/ml が生成蓄積した。

実施例 4

第 1 表に示した結核の細菌菌株を用い、接種前に、表示した濃度にデコイニンを発酵培地に加える。その他の条件は実施例 1 に示したと同じ条件で 120 時間培養した場合、培養中のキサンチン系化合物の蓄積量は表示の如くであつた。

第 1 表

菌 株	生成物 (mg/ml)			
	デコイニ ン添加 量 $\mu g/ml$	5'-キ サンチ ル酸	キサン チン	キサン チン
アースロバクター・ウレアファシエンス (KY 3152)	500	0.84	0.86	0.53
アースロバクター・シンプレクス (KY 3151)	1000	痕 跡	痕 跡	0.29
フラボバクテリウム・アルボレッセンズ (ATCC 4358)	125	痕 跡	痕 跡	0.36
プレバクテリウム・リネンズ (ATCC 9176)	32	痕 跡	0.38	痕 跡
プレバクテリウム・ピタルウメン (ATCC 10234)	250	痕 跡	0.48	0.37
プレバクテリウム・ヘルホルム (ATCC 11822)	500	0.34	0.82	痕 跡
アルカリゲネス・ファエカリス (OUT 8028)	1000	痕 跡	痕 跡	0.19
セラチア・マルセツセンズ (KY 4101)	250	痕 跡	痕 跡	0.21
プロテウス・ブルガリス (KY 4051)	250	0.27	痕 跡	痕 跡
アエロバクター・アエロゲネス (ATCC 8308)	1000	痕 跡	0.28	0.35

5

バチラス・メガテリウム (ATCC15177)
 バチラス・セレウス (ATCC7004)
 バチラス・プミルス (KY3353)
 サルチナ・ルテア (ATCC15176)
 ミクロコッカス・ソドネシンス (KY3765)
 ミクロコッカス・シトレウス (ATCC4012)
 ミクロコッカス・バリアンス (ATCC399)
 エンエリキア・コリ (K12)
 バチラス・ズブチリス (ATCC15244)
 ミクロコッカス・グルタミクス (ATCC13032)
 ブレヴィバクテリウム・アンモニアゲネス (ATCC6872)
 プソイドモナス・フルオレッセンズ (NRRL-B-6)

6

500 痕跡 0.23 0.52
 250 0.32 痕跡 痕跡
 250 0.14 痕跡 痕跡
 32 0.68 痕跡 痕跡
 1000 痕跡 0.76 痕跡
 125 0.07 痕跡 痕跡
 32 0.21 痕跡 痕跡
 2000 痕跡 0.91 痕跡
 500 0.09 痕跡 痕跡
 250 0.68 痕跡 痕跡
 32 2.16 痕跡 痕跡
 500 0.49 0.48 0.31

特許請求の範囲

1 抗生物質デコイニンを培養のいずれかの時期に存在せしめた培地に細菌を培養することにより、培地中および菌体内に5'-キサンタル酸、キ

サントシンおよびキサンチンを生成蓄積せしめこれを採取することを特徴とする5'-キサンタル酸、キサントシンおよびキサンチンの製造法。